

Posudek školitele na diplomovou práci **Bc. Jany Uhlířové**

„The role of microtubule severing ATPase katanin in modulation of glioblastoma cell motility and proliferation”

Diplomová práce byla vypracována na Oddělení biologie cytoskeletu Ústavu molekulární genetiky AV ČR, které se dlouhodobě zabývá regulacemi mikrotubulů v normálních a nádorových buňkách. Glioblastomy jsou invazivní a velmi obtížně léčitelné mozkové nádory. Molekulární mechanismy podmiňující maligní transformaci benigních gliomů do glioblastomů jsou nejasné. Mikrotubuly jsou regulovány řadou asociovaných proteinů, mezi které patří i ATPázy (katanin, spastin a další), které štěpí mikrotubuly na menší úseky. Výzkumy z posledních let prokázaly, že mezi glioblastomy a nezhoubnými astrocyty jsou podstatné rozdíly v expresi některých mikrotubulárních proteinů. Bylo prokázáno, že zvýšená exprese spastinu koreluje se se stupněm malignity gliomů, a že deplece spastinu ovlivňuje motilitu a proliferaci glioblastomových buněk. Cílem této práce bylo charakterizovat glioblastomové linie s ohledem na expresi a distribuci kataninu, tvořeného katalytickou a regulační podjednotkou a určit roli kataninu při regulaci buněčné motility v glioblastomových buněčných liniích.

Předložená diplomová práce napsaná v anglickém jazyce obsahuje stručný literární přehled o stavbě a regulaci mikrotubulů a ucelený přehled současných znalostí o struktuře a funkcích kataninových podjednotek v různých buněčných dějích. V metodické části jsou podrobně popsány metody použité v experimentální části práce.

Autorce se podařilo prokázat diferenciální expresi kataninových podjednotek v pěti vybraných glioblastomových liniích a ve srovnání s astrocyty zvýšenou expresi podjednotek jak na úrovni transkriptů, tak i proteinů v některých liniích (T98G, U87MG, KNS42). Kvantifikace buněčné migrace ukázala, že rychlost migrace koreluje s množstvím kataninových podjednotek. S ohledem na subcelulární lokalizaci, vykazovaly kataninové podjednotky u všech glioblastomových linií difúzní distribuci u interfázních buněk a podstanou koncentraci na pólech mitotického vřeténka. U migrujících buněk bylo

charakteristické nabohacení v oblasti vedoucí lamely. Snížení exprese kataninových podjednotek pomocí siRNA vedlo u glioblastomových buněk T98G jak k inhibici buněčné motility, tak k inhibici jejich invazivity. Rovněž byla snížena buněčná proliferace. Jde o prioritní nálezy, které poprvé naznačují, že by zvýšená exprese kataninu v glioblastomových buňkách mohla být spojena s vysokou migrací a invazivitou těchto buněk.

Na základě výsledků předložené diplomové práce pokračuje na Oddělení biologie cytoskeletu ÚMG AVČR studium vlivu kataninu na migraci glioblastomových buněk. Ovlivnění proteinů štěpících mikrotubuly jako je katanin nebo spastin by mohlo představovat novou strategii při léčbě gliomů.

V průběhu diplomové práce autorka prokázala schopnost samostatné práce s relevantní vědeckou literaturou, velmi dobře zvládla standardní metody v laboratoři a přispěla i k zavedení nové metody studia invazivity glioblastomových buněk. Prokázala také, že umí pracovat ve vědeckém kolektivu a dokumentovat experimenty. Práci sepisovala samostatně.

Z předložených výsledků vyplývá, že zadané cíle diplomové práce byly splněny. Doporučuji proto přijetí diplomové práce k obhajobě.

Návrh hodnocení: výborně.

V Praze 10. srpna 2016

Doc. RNDr. Pavel Dráber, CSc.